

CH 688 504 A5

11



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT  
EIDGENÖSSISCHES INSTITUT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein  
Schweizerisch-Liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1976

11 CH 688 504 A5

11 Int. Cl.<sup>8</sup> A 61 K 031/018  
A 61 K 031/22  
A 61 K 031/236

12

ID

## 12 PATENTSCHRIFT A5

21 Gesuchnummer: 00282/95

22 Anmeldungsdatum: 28.03.1997

24 Patent erteilt: 31.10.1997

25 Patentschrift veröffentlicht: 31.10.1997

23 Inhaber:  
Marigen S.A., Neckbergstr. 40, c/o Dr. Eugster,  
4125 Riehen (CH)

26 Erfinder:  
Eugster, Carl, Dr., Riehen (CH)  
Haldemann, Walter, Dr., Binningen (CH)

64 Ultramikroemulsionen aus spontan dispergierbaren Konzentraten mit antitumoral wirksamem Taxol und mit Taxol-analogen Verbindungen.

67 Spontan dispergierbare Konzentrate mit antitumoral wirksamem Taxol und mit Taxol-analogen Verbindungen, ihre Zusammensetzung und Überführung in wässrige Ultramikroemulsionen, sowie ihre Verwendung als Mittel zur Herstellung eines pharmazeutischen Kombinationspräparates mit erhöhter und gut verträglicher Wirksamkeit gegen Tumore, Psoriasis und Ekzeme werden beschrieben.



CH 688 504 A5

02-Mar-98 08:31P

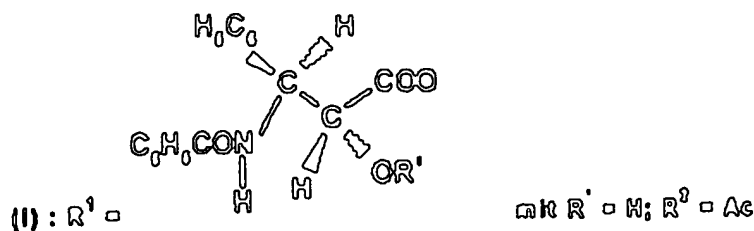
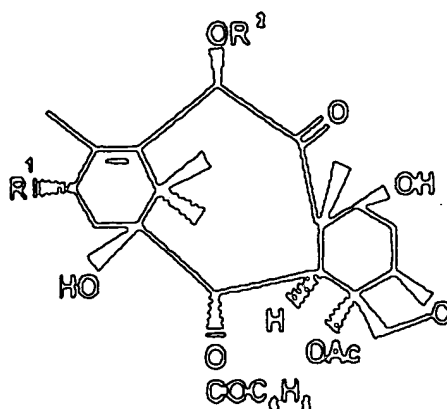
## Beschreibung

Die vorliegende Erfindung betrifft spezielle dispergierte Konzentrate mit einem halbschen Taxol und anderen chemischen halbschen, Taxol-enthaltenen Verbindungen, ihre Zusammensetzung und Überführung in verpackungsfähige Ultramicroemulsionen, sowie ihre Verwendung als Mittel zur Herstellung einer pharmazeutischen Konzentration, die mit einem oder mehreren Wirkstoffen gegen Tumore, Prostata und Eierstock.

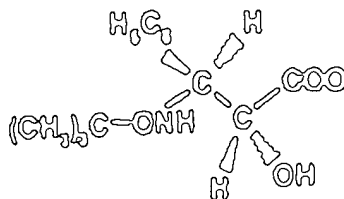
Ausgewählte, in Wasser chemischer halbschen Taxol-Verbindungen haben eine sehr starke Wirkung gegen Tumore, Eierstock und Schuppenflechte, wobei wenn es in speziellen dispergierten MAFEGENOL-Konzentratem eingearbeitet und dann mit destilliertem Wasser, 95-iger Ethanol-Lösung oder physiologischer Kochsalzlösung (Ringarbeitsung) verdünnt werden sind, wobei sich thermodynamisch stabile Ultramicroemulsionen mit globulären Molekülen bilden, welche einen hydrodynamischen Radius von 2,2 bis 3,0 nm aufweisen.

## Beschreibung der Erfindung

Das für die Formulierung von emulsionsfähigen Konzentraten ausgewählte Taxol (Pacitaxel) und die Taxol-enthaltenen Verbindungen haben die Formeln (I) bis (XVIII):



TAXOL = PACITAXEL, Rohmaterial (Pacitaxel aus Kirschenbaum Yew) von DASUR INDIA Ltd., Kanchi Bhawan, Block 40, Connaught Place, New Delhi und 22, Sch IV, Schindler/Ghoshal (U. P.) India, Bangalore.

(II) :  $\text{R}^1 =$ 

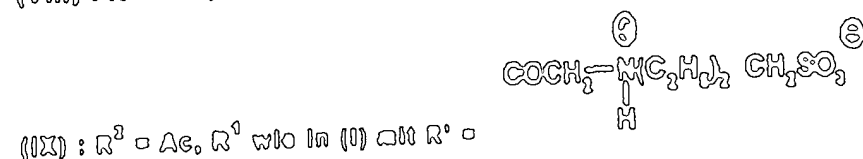
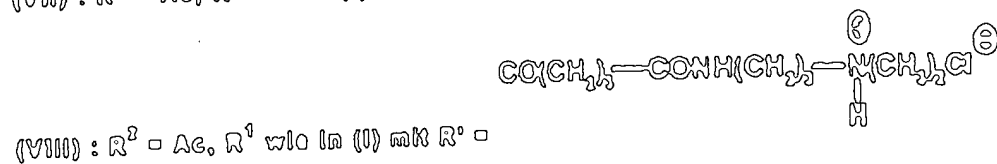
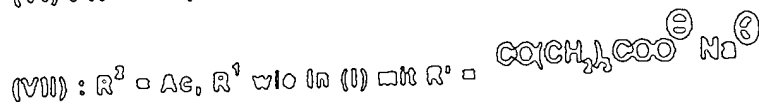
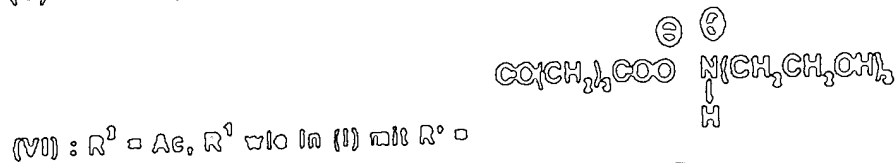
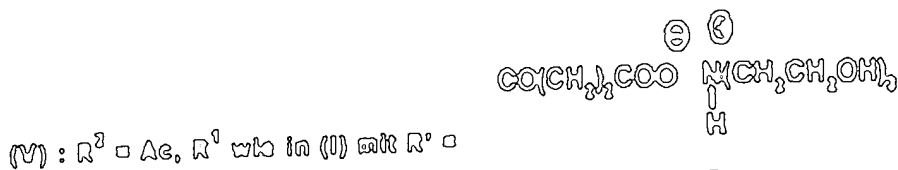
TAXOTÈRE

 $\text{R}^2 = \text{H}$ (III) :  $\text{R}^1 = \text{OH} ; \text{R}^2 = \text{H}$ 

10-DEACETYLBACCATIN-III (DAB)

(IV) :  $\text{R}^1 = \text{OH} ; \text{R}^2 = \text{Ac}$ 

BACCATIN-III und DAB-Reinstitute (besteht aus Händlern Yow) von DABUR INDIA Ltd., Mumbai  
 Erhalten, Block 40, Connaught Place, New Delhi und 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288, 289, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303, 304, 305, 306, 307, 308, 309, 310, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 317, 318, 319, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 336, 337, 338, 339, 340, 341, 342, 343, 344, 345, 346, 347, 348, 349, 350, 351, 352, 353, 354, 355, 356, 357, 358, 359, 360, 361, 362, 363, 364, 365, 366, 367, 368, 369, 370, 371, 372, 373, 374, 375, 376, 377, 378, 379, 380, 381, 382, 383, 384, 385, 386, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 409, 410, 411, 412, 413, 414, 415, 416, 417, 418, 419, 420, 421, 422, 423, 424, 425, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446, 447, 448, 449, 450, 451, 452, 453, 454, 455, 456, 457, 458, 459, 460, 461, 462, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498, 499, 500, 501, 502, 503, 504, 505, 506, 507, 508, 509, 510, 511, 512, 513, 514, 515, 516, 517, 518, 519, 520, 521, 522, 523, 524, 525, 526, 527, 528, 529, 530, 531, 532, 533, 534, 535, 536, 537, 538, 539, 540, 541, 542, 543, 544, 545, 546, 547, 548, 549, 550, 551, 552, 553, 554, 555, 556, 557, 558, 559, 560, 561, 562, 563, 564, 565, 566, 567, 568, 569, 570, 571, 572, 573, 574, 575, 576, 577, 578, 579, 580, 581, 582, 583, 584, 585, 586, 587, 588, 589, 590, 591, 592, 593, 594, 595, 596, 597, 598, 599, 600, 601, 602, 603, 604, 605, 606, 607, 608, 609, 610, 611, 612, 613, 614, 615, 616, 617, 618, 619, 620, 621, 622, 623, 624, 625, 626, 627, 628, 629, 630, 631, 632, 633, 634, 635, 636, 637, 638, 639, 640, 641, 642, 643, 644, 645, 646, 647, 648, 649, 650, 651, 652, 653, 654, 655, 656, 657, 658, 659, 660, 661, 662, 663, 664, 665, 666, 667, 668, 669, 670, 671, 672, 673, 674, 675, 676, 677, 678, 679, 680, 681, 682, 683, 684, 685, 686, 687, 688, 689, 690, 691, 692, 693, 694, 695, 696, 697, 698, 699, 700, 701, 702, 703, 704, 705, 706, 707, 708, 709, 710, 711, 712, 713, 714, 715, 716, 717, 718, 719, 720, 721, 722, 723, 724, 725, 726, 727, 728, 729, 730, 731, 732, 733, 734, 735, 736, 737, 738, 739, 740, 741, 742, 743, 744, 745, 746, 747, 748, 749, 750, 751, 752, 753, 754, 755, 756, 757, 758, 759, 760, 761, 762, 763, 764, 765, 766, 767, 768, 769, 770, 771, 772, 773, 774, 775, 776, 777, 778, 779, 780, 781, 782, 783, 784, 785, 786, 787, 788, 789, 790, 791, 792, 793, 794, 795, 796, 797, 798, 799, 800, 801, 802, 803, 804, 805, 806, 807, 808, 809, 810, 811, 812, 813, 814, 815, 816, 817, 818, 819, 820, 821, 822, 823, 824, 825, 826, 827, 828, 829, 830, 831, 832, 833, 834, 835, 836, 837, 838, 839, 840, 841, 842, 843, 844, 845, 846, 847, 848, 849, 850, 851, 852, 853, 854, 855, 856, 857, 858, 859, 860, 861, 862, 863, 864, 865, 866, 867, 868, 869, 870, 871, 872, 873, 874, 875, 876, 877, 878, 879, 880, 881, 882, 883, 884, 885, 886, 887, 888, 889, 890, 891, 892, 893, 894, 895, 896, 897, 898, 899, 900, 901, 902, 903, 904, 905, 906, 907, 908, 909, 910, 911, 912, 913, 914, 915, 916, 917, 918, 919, 920, 921, 922, 923, 924, 925, 926, 927, 928, 929, 930, 931, 932, 933, 934, 935, 936, 937, 938, 939, 940, 941, 942, 943, 944, 945, 946, 947, 948, 949, 950, 951, 952, 953, 954, 955, 956, 957, 958, 959, 960, 961, 962, 963, 964, 965, 966, 967, 968, 969, 970, 971, 972, 973, 974, 975, 976, 977, 978, 979, 980, 981, 982, 983, 984, 985, 986, 987, 988, 989, 990, 991, 992, 993, 994, 995, 996, 997, 998, 999, 1000



(X) :  $R^2 = Ac$ ,  $R^1$  wlo in (I) mlt  $R^1 = COCH_2CH_2COOH$

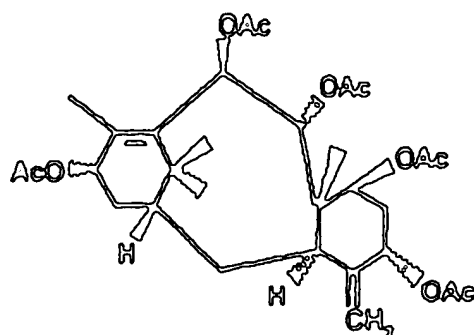
(XI) :  $R^2 = Ac$ ,  $R^1$  wlo in (I) mlt  $R^1 = COCH_2SCH_2COOH$

(XII) :  $R^2 = Ac$ ,  $R^1$  wlo in (I) mlt  $R^1 = COCH_2SO_2CH_2COCH_3$

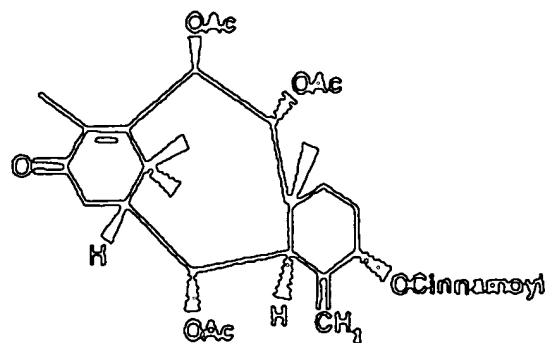
(XIII) :  $R^2 = Ac$ ,  $R^1$  wlo in (I) mlt  $R^1 = COOCH_2CH_2SO_2C_6H_5$

(XIV) :  $R^2 = Ac$ ,  $R^1$  wlo in (I) mlt  $R^1 = COOCH_2CH_2SO_2$ -p-nitrophenyl

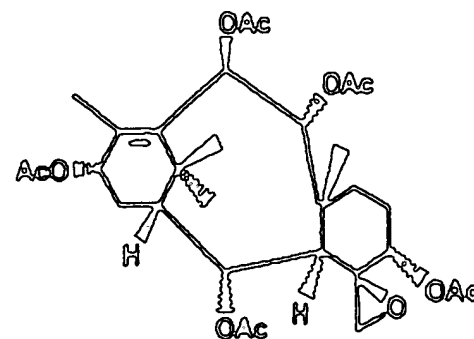
(XV) :  $R^2 = Ac$ ,  $R^1$  wlo in (I) mlt  $R^1 = COOCH_2CH_2SO_2$ -p-aminophenyl



(XVI) :



(XVII) :



(XVIII) :

Wenn Beispiel von Tausch- und anderen Vorleistungen sind und in folgenden Prioritäten bewertet

EP 0569 201 A1 (Priority 02.02.1982; U.S. 979,631, Bristol-Myers Squibb Co.) WO 84/07870 (Priority 02.02.1982; EP 02,692,000.20, Bristol-Myers Squibb SA)

03.10.1992 PCY/FR 83-00228, RHO-POLINE RORY SA

WO 84-07860 (Priority U.S. 03-10-1982; Process for the preparation of Baccatin-D-Analogues)  
WO 84-17081, Florida State University, Process for the preparation of Baccatin-D-Analogues  
(Priority U.S. 03-010,783, 29.01.83)

U.S. 02-004-92 22050

U.S. 02/03/79 22.07.50  
U.S. 02/03/79 20.07.50

U.S. 02/03/75, 20/07/75  
WD 4417050 Florida State University. C7-Two Derivatives

WO 017030, FRIED 300, 01/01/03  
(P) 01/01/03 U.S. 02/01/03, 22.01.03

U.S. 06484 52 22023

U.S. 02-083,162 22.05.93  
U.S. 02-083,169 20.07.93

U.S. 027083, 160, 20.07.88  
WFO 2411913 Bm Mawr Corp. Synth of Total Analogs and Inhibitors

WO 2418162, Eyn Mewt Co-9  
 11-11-11 U.S. 24015 024 03.12.93

Total sechs zu Total-entlegten Verbindungen der Formeln (I) bis (XVII) sind nahezu wasserunlöslich und hoch aggregierte Verbindungen. Durch die Methode dieser Verbindungen aber durch die Membranbrüche der Tumorzellen eindringen und im Innern der Zelle wirksam werden können, mußten diese Verbindungen vorerst in geeigneter Weise im wasserlöslichen Medium aufbereitet werden.

Es hat sich herausgestellt, dass die entsprechende Wirkung der Verbindungen (I) bis (XIV) auch dann erreicht ist, wenn die in offenzugänglicher, exponierter, zugänglicher Konformation eingeschlossen werden können. Im Wege der Bildung von Thermodynamisch stabilen Oligo- und Polymeren Umwandlungsreaktionen werden. Im Wege der Bildung von Thermodynamisch stabilen Oligo- und Polymeren Umwandlungsreaktionen werden. Im Wege der Bildung von Thermodynamisch stabilen Oligo- und Polymeren Umwandlungsreaktionen werden.

[illegible][illegible]

Die Richtung, die ein kontinuierlicher Diffusionsvorgang einschlägt, wird vom Konzentrationsunterschied bestimmt, welcher an der Plasmamembran zwischen außen und innen im Tumorzell besteht. Die Diffusion verläuft solange entlang dem Konzentrationsgefälle, bis ein Abgleich ist. Zwischen der extrazellulären Zone und dem Inneren der einzelnen Tumorzelle wird ein Konzentrations- und Wasserpotenzial ausbalanciert. Der Wasserpotenzial wird durch die osmotische Druckdifferenz bestimmt, die durch die Verteilung von gelösten Stoffen entsteht. Die Diffusionsgeschwindigkeit ist abhängig von der Temperatur und der Diffusionskoeffizienten. Die Diffusionsgeschwindigkeit ist proportional zum Quadrat der Diffusionslänge. Die Diffusionsgeschwindigkeit ist proportional zum Quadrat der Diffusionslänge. Die Diffusionsgeschwindigkeit ist proportional zum Quadrat der Diffusionslänge.

1. vom Konzentrationsunterschied  $\Delta c$  in den beiden Kompartimenten
2. vom Teilchenradius des diffundierenden Wirkstoffmoleküls oder Wirkstoffsystems
3. von der Viskosität der diffundierenden wässrigen Lösung (Emulsion)
4. von der Temperatur.

Wie aus der nachstehenden Tabelle ersichtlich ist, hat das globuläre Mizell mit einem hydrodynamischen Radius von einem Centimeter ein Volumen von  $4,169 \text{ cm}^3$  und eine Phasenschnittfläche von  $12,594 \text{ cm}^2$ .

30 Dampfgonitidee haben 10<sup>18</sup> Moleköl mit einem hydrodynamischen Radius von nur 10<sup>-9</sup> cm (10 nm), welche zusammen das gleiche Volumen von 4,187 cm<sup>3</sup> ausmachen, oder eine Gesamt-Fläche von 1259,4 m<sup>2</sup> auf.

## MIZELLEN: VERHÄLTNISS VOLUMEN ZU GESAMTOBERFLÄCHE

	ZAHLE der MIZELLEN	Hydrosynthetischer RADIUS der Mizellen	VOLUMEN der Mizellen	GESAMTOBER- FLÄCHE der Mizellen
9	1	1 cm	4,187 cm <sup>3</sup>	12,566 cm <sup>2</sup>
	10 <sup>3</sup>	0,1 cm = 1 mm	4,187 cm <sup>3</sup>	125,66 cm <sup>2</sup>
	10 <sup>4</sup>	0,01 cm	4,187 cm <sup>3</sup>	1 256,6 cm <sup>2</sup>
10	10 <sup>5</sup>	0,001 cm	4,187 cm <sup>3</sup>	12 566 cm <sup>2</sup>
	10 <sup>6</sup>	0,0001 cm = 1 µm = 1000 nm	4,187 cm <sup>3</sup>	125 660 cm <sup>2</sup>
	10 <sup>7</sup>	0,00001 cm = 100 nm	4,187 cm <sup>3</sup>	1 256 400 cm <sup>2</sup>
15	10 <sup>8</sup>	10 <sup>-5</sup> cm = 10 nm	4,187 cm <sup>3</sup>	1 256,4 cm <sup>2</sup>
	10 <sup>9</sup>	10 <sup>-6</sup> nm = 1 nm	4,187 cm <sup>3</sup>	12 564 cm <sup>2</sup>
	Kugelvolumen = $\frac{4}{3} \pi r^3$			
	Kugeloberfläche = $4 \pi r^2$			

20 Führt Durch die grosse Phasenschnittfläche, welche die Mizellen mit einem hydrosynthetischen Radius von 2,2 bis 3 nm in Ultramembranulose ausbilden, wird zusätzlich zu deren gescheiterten Diffusionsvermögen die rheologische Viskosität (= Widerstand) und damit die gesamte Abgabe, d.h. die Bioverfügbarkeit und Bioaktivität der Wirkstoffe, welche in der inneren Phase der Mizellen in wasserlöslicher oder besserer aggregierter Form vorliegen, ebenfalls stark verbessert. Dies kann eine beträchtliche Erleichterung der limitierten Dosierung erlauben und damit unerwünschte Nebenwirkungen vermeiden oder wenigstens verringern helfen.

Die «Pflanzungsstelle» eines spontan dispergierbaren, stabilen MAREKOL-Konzentrates nimmt in wasserlöslicher Form die kleiner vorhandene Teilchenoberfläche der Mizellen zu. Entscheidend sind die richtige Ausbildung der inneren Phase des Konzentrates, der ausgeprägten Verhältnis zum Gesamtvolumen und die Auswahl der je dazu passenden Tenside.

Die auffindungsgemässen spontan dispergierbaren Konzentrate vereinigen in sich die wesentlichen Eigenschaften:

35 0,5 bis 5 Gew.-% von Tensid oder einer Tensid-ähnlichen Verbindung der Formeln (I) bis (VIII), bzw. Kombinationen solcher Wirkstoffe, sowie

5 bis 25 Gew.-% eines als Hydrogel, bzw. Gelelemente einwirkenden, pharmazeutischem Lösungsmittel oder Lösungsmittelgemisches,

5 bis 20 Gew.-% eines pharmazeutischen Tonstoffs oder Tonstoffsamischs.

Sie können darüber enthalten:

40 0 bis 10 Gew.-% eines Vitamins oder Provitamins,

0 bis 10 Gew.-% eines Stabilisierers, Reduktionsmittel oder Pufferstoffes (z.B. Citronensäure oder Natriumcitrat).

Die auffindungsgemässen erfindungsfähigen Öl-in-Wasser Ultramembranulose enthalten:

0,01 bis 5 Gew.-% eines spontan dispergierbaren Konzentrates wie oben beschrieben,

45 85 bis 99,99 Gew.-% desjenigen Wassers, 5%-ige Emulsionierung oder physikalische Nachbehandlung (Ringöffnung),

0 bis 10 Gew.-% pharmazeutischen Trägers oder Zusatzstoffe und/oder Hilfsstoffe.

Die erfindungsgemässen emulsionierten Tonstoffe oder Tonstoffsamischs können anionisch, kationisch, amphoter oder nicht-ionogen sein. Bevorzugt sind die anionischen oder nicht-ionogenen und haben ein KLB-Verhältnis (d.h. eine «hydrophile-lipophile Balance») zwischen 2 und 16; vorteilhaft liegt es für Gemische zwischen 2 bis 6 einmischend und 10 bis 15 einmischend. KLB-Werte geben Auskunft über die hydrophilen und lipophilen Eigenschaften eines Emulgators. Vgl. dazu «Hydrophile-Lipophile Balance: History and recent Developments» von Paul Becher im Journal of Dispersion Science and Technology 6 (1), 81-83 (1984).

55 Geeignete anionische Tonstoffe können sowohl org. anorganische Salze, als auch anorganische synthetische Verbindungen sein. Als Salze eignen sich die Alkali-, Erdalkali- oder organische ammoniumartige Ammoniumsalze von höheren Fettsäuren (C<sub>12</sub>-22), wie z.B. die natriumischen Na- oder K-Salze der Öl- oder Stearinsäure, oder von natürlichen Fettsäuregemischen, die sich u.a. aus Kollagen- oder Talgöl gewinnen lassen. Ferner sind als Tonstoffe auch die Fettsäure-Magnesiumsalze, sowie anorganische und nicht-anionische Phosphorsalze zu erwähnen.

60 Häufiger werden jedoch sogenannte synthetische Tonstoffe verwendet, insbesondere Fosbucel, Fosulicite, sulfonierbare Benzimidazol-Derivate oder Alkylbenzolsulfonate.

Die Fosbucel- und -sulicite liegen in der Regel als Alkali-, Erdalkali- oder organische ammoniumartige Ammoniumsalze vor und weisen im allgemeinen einen Alkylnachteil mit 0 bis 22 C-Atomen auf, wobei Alkyl auch den Alkylteil von Arylresten einschliesst. Beispiele hierfür sind das Na- oder Co-Salz der 11-

[illegible]

Als nichtaromatische Terephte stehen im unteren Bereich der Welt der Polyaryletheren von Aromaten oder cycloaromatischen Aromaten, geraden oder ungeraden Phenylen und Alkyphenylen, welche 9 bis 30 Glykolsäuregruppen und 9 bis 20 C-Atome im (ungeraden) Kernmonomeren und 9 bis 10 C-Atome im Aromaten enthalten können. Weiterhin kommen zu nichtaromatischen Terepht in Frage die monomeren, 20 bis 230 Ethylenphthalatgruppen und 10 bis 100 Propylphthalatgruppen enthaltenen Polydimethylsiloxane, Polypropylenphthalat und Alkylpolypropylenphthalat mit 1 bis 10 C-Atomen in der Alkylkette. Die genannten Verbindungen enthalten mindestens drei Propylphthalat- und 1 bis 5 Ethylenphthalatgruppen.

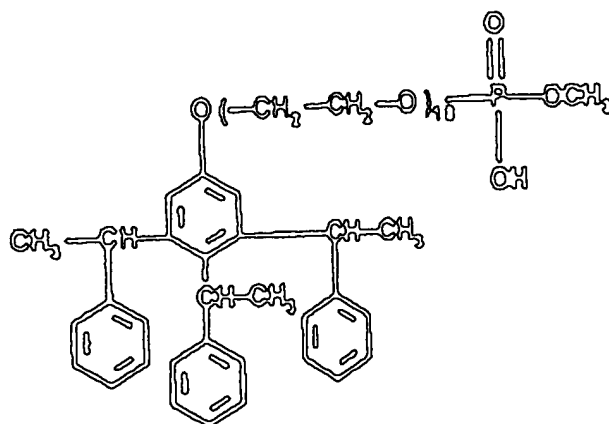
Als Beispiel nicht-ionischer Tenside seien folgende Nonylphenolpolyoxyethylen, Rinnulthpolyoxyethylen, Polypropylenpolyoxyethylen-Akolyen, Tri-  
19 butylphenolpolyoxyethylen, Polyvinylpyrrolidon (PEG) und Octylphenolpolyoxyethylen genannt. Über die  
Verwendung von Polyoxyethylen-Tensiden, wie das Polyoxyethylen-(20)-carboxyl-Mononatrium (TWEEN-20), bzw. das Po-  
lyoxyethylen-(20)-carboxyl-Triäthanol, in Emulsionen, ist bereits in der Literatur (1) berichtet worden.

20. Bei den kationischen Polymeren handelt es sich vor allem um quaternäre Ammoniumsalze, wobei die N-Substituenten mindestens einen Alkylrest mit 8 bis 22 C-Atomen enthalten und die wasserlöslichen Arten mindestens einen Hydroxyalkyl- oder Hydroxyäthylrest aufweisen. Die Seitenketten werden als Halogenide, Methansulfate oder Ethylsulfate vor, z.B. des Stearyltrimethylammoniumchlorids oder des Benzyl-dimethylammoniummethansulfats.

23 In diesem Mischversuch zur Homologation von Chelatphosphorsäure wurden folgende Substanzen verwendet:

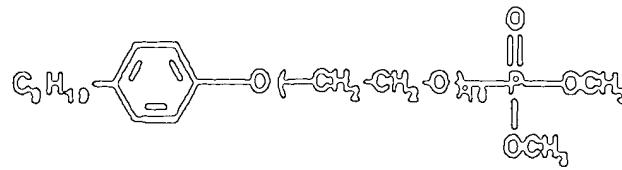
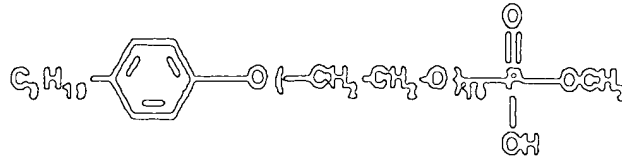
zusätzlich eine chemische Phosphorsäurekonzentration, wie z.B.:

Trisäurephosphorsäurekonzentration-10-phosphorsäurekonzentration-TEA-Satz (das Trisäurephosphorsäure-Satz)



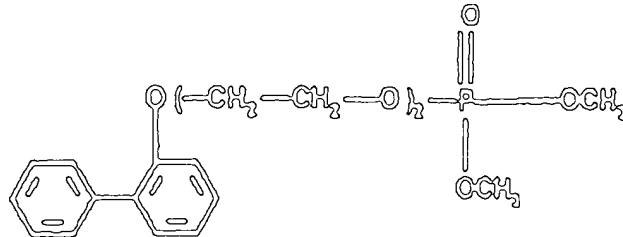
(Soprophor FL, RHÔNE-POULENC);

so Differenz 3073 (CBA-GEIGY), bzw. das identische Sampl. EA 100 (SERVO), ein Messchaltgerät, bestehend aus 2 455 der beiden Verbindungen mit den Formeln



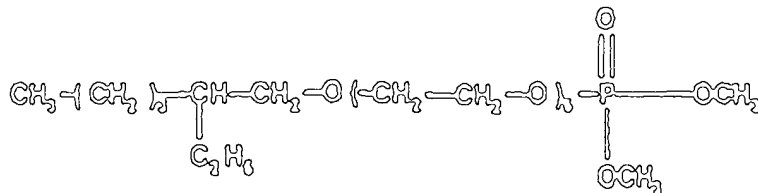
Diphosphat 3073 (CIBA-GEIGY), ein Alkylphenol Polyetherphosphat-Tensid

Tensid 508 (CIBA-GEIGY)



(Tensid 508, CIBA-GEIGY);

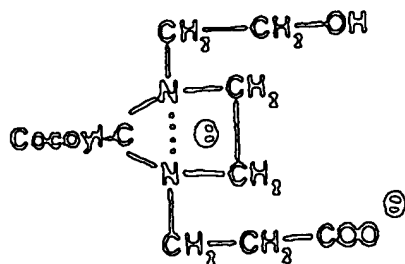
Tinovin 11 (CIBA-GEIGY), ein Hydroxyphenyl-10-Phenylphosphat-Tensid  
Butylmono-4-phenylphosphat-Tensid (Zorostat AT, CIBA-GEIGY), bzw.



(Zorostat O AN, CIBA-GEIGY)

und andere Biotinverbindungen, die angetrieben, unter und versetzt werden können, wie z.B. das mit Volumentensiden hochkonzentrierte Tensid Amphiphil CA-11, welches durch die Chemische Industrie AG, Frankfurt a.M. (Lizenz von der Firma Chemische Forschungsinstitut Schöler AG, CH-4110, Basel) hergestellt wird.





mit Datokalculator  
[+]-Ladung

Amphonyl CA-AA (CHEMAG).

19. Verwendung finden auch sog. "Polyoxane"-Verbindungen gemäss der CTFA-Charakteristika, wie z.B. "TWEEN"-20-60 von Atlas Chemical, bzw. ICI Specialty Chemical, sowie sog. "multifunctional polyoxo" darstellend, wie z.B. Glucosyl SS (Methyl-Glucosyl-Saccharin) und Glucosyl SS-20 (PEG-20 Methyl-Glucosyl-Saccharin) von Amerchol, Edison, N.J. Ferner, ethoxymethoxy- und Urethangruppen besessene Chole-

[illegible]

20 28a. 2.81:  
Ester eines dihydrierten Alkohols (C<sub>6</sub>-10) mit einer dihydrierten Carbonsäure (C<sub>10</sub>-22), wo das Car-  
boxylat, Methylat, Benzylat, Isopropylat, t-Butylat, Propylat, Isobutylat, Cyclopentylat, Hexylat, Heptylat, Octylat, Nonylat, Decylat, Dodecylat, Tetradecylat, Hexadecylat, Octadecylat, Eicosylat, Docosylat, Tetracosylat, Hexacosylat, Octacosylat,triacontylat, hiesig mit 6 bis 10 Methylgruppen substituiert  
25 kann mit einer geraden Kohlenwasserstoffkette (C<sub>12</sub>-22), welche mit 6 bis 10 Methylgruppen substituiert ist  
und 1 bis 6 Doppelbindungen enthalten kann, wobei Torsion im Polymethylat und Polymethylat  
kann die Bildung davon möglich. Mono-Ester aus Isopropylat oder Propylat mit einer dihy-  
drierten Carbonsäure (C<sub>6</sub>-22), wo das Propylat/Isopropylat und Propylat/Isopropylat  
beiden Carbonsäure (C<sub>6</sub>-22), wo das Propylat/Isopropylat und Propylat/Isopropylat

Entw. aus einem organischen Alkohol (C<sub>18</sub>-22) mit Essigsäure, das z.B. typisch bei wasserunlöslichen Lauryl-Lactat, Mono-, Di- oder Triester des Glycerins mit einer organischen Carbonsäure (C<sub>6</sub>-22) wie z.B. Glyceryl-Crotonat, oder Methyl- 612 Nourinil (Oleum nourinil).

SO Ester aus einem Poly(2-7)äthylnaphthalenylazobenzol mit mindestens einer hohen Hydroxygruppe und einer aliphatischen Carbonsäure (C<sub>2</sub>-22), wie z.B. aliphatische Alkohole (C<sub>2</sub>-22), sowie u.a. Dodecanol, Tridecanol, Octadecanol, 2-Nonyldecanol und 2-Octyldecanol.

Esoter mit mindestens einer freien Hydroxygruppe, aus Poly(2-10)pyridin od einer aliphatischen Carbonsäure (C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>), Monomeren aus einem Polymethacrylat od einem aliphatischen Alkohol (C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>), ein 2-8-Butenololigomer (C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>) enthält.

33 z.B. Polymersynthese (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>)  
Makrozyklische Verbindungen, wie z.B. 1-Methyl-2-Pyrrolidon. Einmalige Teilung der Polymeren  
nach Formel (100)



49) worin R<sub>2</sub> eine Co-st-Allyl, bezw. eine Co-st-Alkyl- oder Alkylphenylgruppe ist und R<sub>3</sub> Chlor-, Fluor-, Brom-, Iod-, Natrium- oder Phosphor-Atom ist.

Als technisches Tonband wurden vor dem Entzug in ein geeignetes Exportmaterial überführt und  
Folien, bzw. Chrombänder über rautenförmigen Aluminiumträger auf einem festen Lösungsmittel in  
Form eines Einheitsfilms oder Magnetbänder gefertigt.

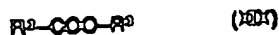
45 z.B. Tetrahydrocan, Ethylalcohol oder Methylalcohol gelangt.  
Als Zusätze in die chondrogenen Medien desophtischen Kollagens dienen das Vitamin  
und Provitamin (wie z.B. Vitamin A, B<sub>12</sub>, Retinol, Tocopherol und deren Ester), sowie auch emp-  
fährliche Pflanzengewebe und Reduktoren.  
Vitamin C, Vitamin E und Vitamin K, sowie desophtischen Kollagen

**ZUSAMMENSETZUNGSBEISPIELE** von emulgierenden, opaken Emulsionen: **MONOTRATEN**, welche als Wasser in die Formeln (I) bis (VIII) einströmen und welche, wenn sie mit Wasser, 5%-iger Glucoselösung oder physiologischer Kochsalzlösung (Pflanzensatz) vermischt werden, isotonisch oder ULTRAMIKROEMULSIONEN werden, die Mischungen mit einem hydrodynamischen Radius von 2,2 bis 3,0 nm enthalten.

55 0,5 bis 5 Gm.-% Glycerin oder anstehender Winteröl der Formel (I) bis (IV) und 25 Gm.-% Isopropylmyristat, Isopropylpalmitat oder Acetats, wie z.B. Myristat 012 (Dinacetylacetat) oder Acetat, wie z.B. Palmitat 3973 (CIBA-GEIGY), Terephthalat

0 bin 45 Gen.-S Glas Phosphor-Autocolor-Tonträger, vio z.B. D'ghlaser 3973 (CIBA-GEIGY), Tonträger  
5030 (CIBA-GEIGY), Zonitrol AN oder AT (CIBA-GEIGY), Thovosol JU (CIBA-GEIGY), Saphrophor  
FL (RHÔNE-POULENC), ... (CIBA-GEIGY) ... TWEEEN-20 (ICI Specialty Chemicals).

60 8 bis 80 Gew.-% Invertzucker JFC 600% (CIBA-GEIGY) und/oder TWEEN-20 (ICI Specialty Chemicals),  
 (b) 0,8 bis 5 Gew.-% eines oder mehrerer Wirtstoffe der Formel (I) bis (VIII),  
 9,5 bis 26 Gew.-% eines oder mehrerer biotensider Tensidtypen der allgemeinen Formel (IX):



worin R<sup>2</sup> eine C<sub>2-31</sub>-Alkyl-, bzw. eine C<sub>3-31</sub>-Alkanyl- oder Alkapolylengruppe ist und R<sup>3</sup> Citronellyl-, Farnesyl-, Geranyl-, Isoprenyl- oder Phityl- bedeutet,  
30 bis 45 Gew.-% Invadix® JFC 800% und/oder TWEEN®-20, bzw. TWEEN®-80 und/oder Glucamate® SSE-20 (AMERCHOL),

30 bis 45 Gew.-% Soprophor® FL

c) 0,5 bis 5 Gew.-% eines oder mehrerer Wirkstoffe der Formeln (I) bis (XVIII),  
5 bis 25 Gew.-% Ethylalkohol oder 2-Pentanol,

0 bis 5 Gew.-% DMSO getrocknet,

bis zu 40 Gew.-% TWEEN®-20 oder TWEEN®-80 und/oder Glucamate® SSE-20,

10 bis zu 80 Gew.-% Soprophor® FL

d) 1 bis 5 Gew.-% eines oder mehrerer Wirkstoffe der Formeln (I) bis (XVIII),

10 bis 25 Gew.-% Ethylalkohol oder 2-Pentanol,

25 Gew.-% TWEEN®-20 und/oder TWEEN®-80,

0 bis 15 Gew.-% Invadix® JFC 800%,

15 bis zu 50 Gew.-% Soprophor® FL

e) 0,5 bis 4 Gew.-% des Wirkstoffes laut Formel (I),

3 bis 12 Gew.-% Ethylalkohol oder 2-Pentanol und/oder DMSO getrocknet,

16 Gew.-% Citronellyl-10-Undecanoat (C<sub>11:1</sub>-Citronellyl-ester) oder Citronellyl-Laurat (C<sub>12:0</sub>-Citronellyl-ester),

20 34 bis 40 Gew.-% Invadix® JFC 800%,

34 bis 40 Gew.-% Soprophor® FL

N.B.: INVADIX® JFC 800% (CIBA-GEIGY) ist ein wasserfreier tert. Octylphenylpolyoxyethylen Ether mit 9 bis 10 Oxyethylen Gruppen.

TWEEN®-20 (ICI Specialty Chemicals) ist die Handels-Bezeichnung für das Polyoxyethylen-(20)-sorbitan Monooleat, TWEEN®-80 für das Polyoxyethylen-(20)-sorbitan Monooleat. CTFA Classification als Polysorbate 20, bzw. 80, [Merck-Index 11.7569]. Glucamate® SSE-20 (AMERCHOL) ist die Handelsbezeichnung für das Polyethylenglykol-20 Methyl Glucose Sesquilester gemäß CTFA Classification.

BEISPIEL für die pharmazeutische Herstellung eines Systempräparates mit erfindungsgemässen Konzentrationen in der Form von «multiple units».

#### a) Granulierung

Metclose® 90 SH-4000 (Shin-Etsu Chemical)	90.0 g
Avicel® PH-101	80.3 g
Erfindungsgemässes KONZENTRAT	139.4 g
Aerosil® 200	80.3 g
<b>Σ</b>	<b>390.0 g</b>

Granulierenformen im Schnellmischer oder im Rotationsbett unter Zusatz von 110 g Ethanol, brechen, sieben 18 bis 42 mesh, trocknen 24 h bei 40°C.

b) MSR- und RETARD-Ausrüstung im Rotationsbett mit ACOAT® AS-HG (Shin-Etsu Chemical) und Talk

#### c) Zusammensetzung fertiges Granulat/bzw. Micropellets

Kernmaterial	44%
Erfindungsgemässes KONZENTRAT	25%
MSR-Beschichtung	31%
<b>Σ</b>	<b>100%</b>

N.B.: MSR = Magensaft-Resistenz. Die Pellets/Granulate gemäß a) können auch ohne Befüllung unmittelbar in Kapseln abgefüllt werden, welche aus ACOAT® (HPMC-AS-M oder HPMC-AS-N) hergestellt sind, mit Aceton/Ethanol 1:1 verschlossen werden und so die Funktionen der MSR und der verzögerten Abgabe (Slow-Release, Retard) angemessen steuern.

#### Biologische Prüfungen

Die antitumorale Wirkung von spontan dispergierbaren Konzentrationen mit Wirkstoffen gemäß den Herstellungsbeispielen a) bis c), sowie den Ausführungsbeispielen a) bis e) wird anhand folgender Prüfungsergebnisse bestätigt:

1. In vitro-Tests mit geeigneten Tumorzell-Linien

Es wurde ein biologisches Assay-System entwickelt, das mit Mikroplatten und Verdünnungsreihen arbeitet. Angesetzt werden je 10<sup>4</sup> Tumorzellen in Kulturmedium RPMI 1640 mit 10% Rötalem Kalbs-serum inaktiviert (GIBCO); sie werden so undicht ausgesät, dass sie während des Assays wachsen können, in nichtkonfluenten Monolayers. Die Probenzugabe erfolgt nach 6 bis 24 Stunden, mit 100 µl pro Reihe, die man in 1. Loch mit 100 µl Medium versetzt. Davon wird die Hälfte entnommen und in das folgende Loch eingebracht, wieder mit 100 µl Medium versetzt, uel. Es entsteht eine geometrische Verdünnungsreihe etc.

Die Proben werden im Plaque Assay während 3 bis 5 Tagen bei 37°C mit 3½% CO<sub>2</sub> inkubiert. Anschliessend färben/färbaren mit 0,1% Kristallviolett (Fluka, Buchs) in einer Lösung von 70% Methanol, 1% Formaldehyd, 29% Wasser. Die Auswertung wird am Mikroskop vorgenommen, Vergrößerung 300-fach. Man bestimmt die grösste cytotoxische Verdünnung. Die quantitative Auswertung lässt sich auch mittels Scanning und Absorptionsmessung am Spektrophotometer vornehmen.

2. Prüfung auf Zelltoxizität

2.1 Zelltoxizität der MARIGENOL®-KONZENTRATE  
geprüft an Py6-Zellen (Virus infizierten 3T3 Maus-Fibroblasten)

SUBSTANZ	PRÄPARATE IM TEST	EXPOSITION 48 h in Verdünnung wirksam bis zu 1:	EXPOSITION 120 h in Verdünnung wirksam bis zu 1:
2% TAXOL-W.S.	MIKROEMULSION 1:1000 AKTIVSUBST.	160 000 8 Mio.	320 000 16 Mio.
2% TAXOL-W.S.	ME 1:500 AKTIVSUBST.	20 000 1 Mio.	320 000 16 Mio.
5% ZEAXANTHIN-d- Undecenoat	ME 1:1000 AKTIVSUBST.	40 000 800 000	160 000 3,2 Mio.
5% ZEAXANTHIN-d- Palmitat (PHYSALIEN)	ME 1:500 AKTIVSUBST.	20 000 400 000	160 000 3,2 Mio.
5% C <sub>11</sub> -AZA- FRINYL ESTER	ME 1:500 AKTIVSUBST.	40 000 800 000	160 000 3,2 Mio.
5% VITAMIN D <sub>3</sub> -10- UNDECENOAT	ME 1:500 AKTIVSUBST.	80 000 1,6 Mio.	320 000 6,4 Mio.

Verdünnungen:

Erste Zeile auf Konzentrat berechnet

Zweite Zeile auf Aktivsubstanz-Gehalt berechnet

N.B.: TAXOL- und BACCATIN-II-Reinsubstanz (isoliert aus Himalayan Yew) beigestellt von DABUR INDIA Ltd., 22, Site IV, SAHIBABAD/GHAZIABAD, U.P., INDIA. (Dr. P.S. Srinivasan). 31. Mai 1994 und 1. Juni 1995.

2.2 Versuchswiederholung auf Py6-Zellen mit den gleich wie unter 2.1 zusammengesetzten MARIENOL®-Konzentrationen aber mit verschiedenen Expositionzeiten.

5	SUBSTANZ KONZENTRAT	PRÄPARATE IM TEST	EXPOSITION 24 h in Verdünnung wirksam bis zu 1:	EXPOSITION 72 h in Verdünnung wirksam bis zu 1:
	2% TAXOL-W.S.	MIKROEMULSION 1:1000	40 000	160 000
10		AKTIVSUBST.	2 Mio.	8 Mio.
	2% TAXOL-W.S.	ME 1:500	80 000	1 280 000
		AKTIVSUBST.	4 Mio.	64 Mio.
	5% VITAMIN D <sub>3</sub> -αL-RETINAT	ME 1:500	10 000	640 000
15		AKTIVSUBST.	200 000	12,8 Mio.
	5% VITAMIN D <sub>3</sub> -10-UNDECENOAT	ME 1:500	40 000	160 000
		AKTIVSUBST.	800 000	3,2 Mio.
20	Verdünnungen: Erste Zeile auf Konzentrat berechnet Zweite Zeile auf Aktivsubstanz-Gehalt berechnet 22. Juni 1994			

2.3 Vergleichspräparate mit besserer Zugänglichkeit  
25 Prüfung an Py6-Virus transformierten Mausfibroblasten

30	SUBSTANZ	PRÄPARATE IM TEST	EXPOSITION 24 h in Verdünnung wirksam bis zu 1:	EXPOSITION 72 h in Verdünnung wirksam bis zu 1:
	5% ZEAXANTHIN-dl- Undecenoat	ME 1:1000 AKTIVSUBST.	20 000 400 000	320 000 6,4 Mio.
35	5% PHYSALIEN	ME 1:500 AKTIVSUBST.	10 000 200 000	80 000 1,6 Mio.
	2% C <sub>11:1</sub> -dl- APOCAROTIN ESTER (Undecenoat)	ME 1:1000 AKTIVSUBST.		640 000 32 Mio.
40	1% C <sub>12:0</sub> -dl- APOCAROTIN ESTER (Laurat)	ME 1:100 AKTIVSUBST.		512 000 51,2 Mio.
45	1% C <sub>12:0</sub> -dl- APOCAROTIN ESTER (Stearat)	ME 1:100 AKTIVSUBST.		128 000 12,8 Mio.
	1% C <sub>18:1</sub> -dl- APOCAROTIN ESTER (Oleat)	ME 1:500 AKTIVSUBST.		160 000 16 Mio.
50	1% C <sub>11:1</sub> - AZAFRINYL ESTER	ME 1:100 AKTIVSUBST.		256 000 25,6 Mio.
55	1% ISOZEAXANTHIN- dl-10-UNDECENOAT	ME 1:100 AKTIVSUBST.		256 000 25,6 Mio.
	Exposition: 72 h			

### 3.0 Vergleich des Einflusses der TAXOL-FORMULIERUNG auf die Bioverfügbarkeit und die spezifische Wirksamkeit

- 5 A. Konzentrate hergestellt mit IPM als Coemulgator und mit Cremophor® EL (BASF) als Tensid (Aber kein Alkohol)  
 B. Konzentrate hergestellt mit C<sub>11:1</sub>- $\beta$ -CITRONELLYL-ESTER (MARIGEN) und mit je 50% Invidin® JFC 800% (CIBA-GEIGY) und 50% Soprothor® FL (RHONE-POULENC) als Tensidmischung  
 Wässrige MAKRO-, bzw. ULTRAMIKROEMULSIONEN im Verhältnis 1:1000, hergestellt aus den jeweiligen Konzentraten

- 10 Prüfung der Zelltoxizität mit Py6-Zellen (Polyoma-Virus transformierten 3T3-Mausfibroblasten)

	PRÄPARATE KONZENTRATE mit	EXPOSITION 48 h zelltoxisch bis 1:	EXPOSITION 96 h zelltoxisch bis 1:
15	A 2% TAXOL-W.S. B	320 000 640 000	640 000 1 280 000
	A 2.5% VITAMIN A B ALKOHOL (RETINOL)	40 000 1 280 000	40 000 1 280 000
20	A 2.5% VITAMIN A B SÄURE (TRETINOIN)	20 000 640 000	20 000 640 000
	A B 2% LYCOPIN 7)	- -	- 12 800 000
25	7) Exposition: 72 h.		

### 3.1 VERGLEICHSPRÜFUNGEN (FORTSETZUNG)

- 30 A TAXOL-W.S., als spontan dispergierbares MARIGENOL®-Konzentrat formuliert, das eine wässrige Ultramikro-emulsion bildet  
 B TAXOL-W.S., als herkömmliches Konzentrat formuliert, das nur eine wässrige Makro-emulsion bildet  
 C BACCATIN-III-W.S., als spontan dispergierbares MARIGENOL®-Konzentrat formuliert, das eine wässrige Ultramikro-emulsion bildet  
 35 D BACCATIN-III-W.S., als herkömmliches Konzentrat formuliert, das nur eine wässrige Makro-emulsion bildet

	GEPRÜFTES KONZENTRAT	MIKRO-/MAKRO-EMULSION 1:100	EXPOSITION 24 h, in Verdünnung wirksam bis zu 1:	EXPOSITION 48 h, in Verdünnung wirksam bis zu 1:
40	mit 1%-WIRKSUBSTANZ	AKTIVSUBSTANZ A.S.		
45	A: TAXOL-W.S.	EM 1:100 A.S.	128 000 12,8 Mio.	512 000 51,2 Mio.
	B: TAXOL-W.S.	EM 1:100 A.S.	< 4000 < 400 000	< 4000 < 400 000
50	C: BACCATIN-III-W.S.	EM 1:100 A.S.	128 000 12,8 Mio.	256 000 25,6 Mio.
	D: BACCATIN-III-W.S.	EM 1:100 A.S.	< 4000 < 400 000	< 4000 < 400 000

- 55 Man beachte, dass die erfindungsgetreue Konzentratbildung der herkömmlichen Formulierung weit überlegen ist in der Wirkung. So beträgt deren Bioaktivität schon in der kurzen Expositionszeit von 24 h das 30-fache und bei 48 h Exposition das über 125-fache des bislang Üblichen und Erreichbaren.  
 MARIGENOL®-Konzentrate mit C<sub>11:1</sub>-Citronellylester als Coemulgator und mit einer 1:1 Tensid-Mischung Invidin® JFC 800%/Soprothor® FL formuliert. Herkömmlich formulierte Konzentrate mit Isopropylmyristat als Coemulgator und mit Cremophor® EL (BASF) aufgebaut.  
 60 In beiden Fällen gleiches anteiliges Verhältnis W.S.: Coemulgator: Tensiden angenommen.

3.2 Die analytische Nachprüfung der unterschiedlichen Formulierungen am Institut für Polymere an der E.T.H. in Zürich ergab die nachfolgenden Messdaten:

	PRÄPARAT	MIZELLGRÖSSE in nm
5	A: TAXOL-W.S.	2.2-2.3 ohne Filter
10	B: TAXOL-W.S.	5-6 60-100 starke Streuung breite Verteilung 10%-Filter
15	C: BACCATIN-IB-W.S.	2.2-3.0 ohne Filter, aber 75°
20	D: BACCATIN-IB-W.S.	4-12 starke Streuung breite Verteilung 10%-Filter
25	ESTER-VERBINDUNGEN:	
	Q: QUERCETIN-PENTA-UNDECENOAT	2-3
	QE: $\beta$ -OESTRADIOL-DI-OLEAT	2-3
	F: APIGENIN-TRILAURAT	2-3
	L: GENISTEIN-DILAURAT	2-3

Gemessen wurde die wässrige Emulsion 1:100 der 1%-igen Konzentrate mittels dynamischer Lichtstreuung (DLS) in je 3 Winkelstellungen, mit je 10 Einzelmessungen, an einem speziell ausgerüsteten -Fiber-optic Spectrometer- des Instituts für Polymere, E.T.H., Zürich. Für die Beschreibung der Methodik und des Gerätes vgl. -Mode-selective dynamic light scattering: theory versus experimental realization-. Thomas Giesler et al., Applied Optics/Vol. 34, No. 16/20 June 1995.

#### 4.0. Analytischer Nachweis

##### 4.1 Identifikation von TAXOL-Wirksubstanz

Kapillarzonen-Elektrophorese mit einem Gerät P/ACE 2100 von Beckman Instruments, bzw. einem BioFocus Integrator von BIO-RAD Laboratories.

##### Bedingungen:

Puffer pH = 7.0

50 mM Na-phosphat

100 mM Bor säure

50 mM SDS

filtriert 0.2  $\mu$ m

Zu 20 ml Puffer werden 5 ml Methanol gegeben. Kapillare: HP bubble cell FB 50  $\mu$ m Ø, 37 cm. Injektion: 20 psi\*sec. Run 15 kV, Messung bei 192 nm. Der Ester peak erscheint nach gut 5 Minuten. Detektionsgrenze 0.5 ppm, sehr hohe Auflösung.

##### 4.2 Identifikation der Konzentrat-Mizellen in der wässrigen Mikroemulsion/bzw. im gereinigten Zellplasma der Tumorzellen.

Gleiche Methodik wie 4.1.

Der charakteristische Peak erscheint nach ca. 6 Minuten.

##### 4.3 Nachweis der Membran-Penetration an der Tumorzelle

Am Lichtmikroskop (wie auch am Elektronenmikroskop) lässt sich aufzeigen, dass wenige Stunden nach der Inkubation (Beispiel Py0-Zellen = Polyoma-Virus transformierte 3T3-Mausfibroblasten; dünn ausgelegt, mittlere Verdünnung der Wirkstoff-Konzentrate) sich ein Kranz von Vakuolen um den Zellkern herum ausbildet. Als Markersubstanz kann dem Konzentrat eine kleine Menge Carboxanthin beigegeben werden, das eine deutliche Fluoreszenz besitzt.

Der analytische Nachweis, dass diese Vakuolen die Taxol-Wirksubstanz enthalten, erfolgt ebenfalls mittels mizellarer Kapillar-Zonen-Elektrophorese -MECC-, (Beckman Instruments, P/ACE System 2100 oder BioFocus von Bio-Rad).

4.4 Kontrolle des Molekulargewichts der Wirksubstanz im gereinigten Zellsaft (nach Diffusion) mittels UV-MALDI-Massenspektroskopie unter Verwendung von Sinapinsäure als Matrix (Trans-3,5-dimethoxy-4-hydroxy-Zimtsäure,  $C_{11}H_{12}O_5$ , Fluka 86 430).

- 5 Vgl. im Übrigen: Koji Otsuka et al.: Separation of lipophile compounds by micellar electrokinetic chromatography with organic modifiers, *Electrophoresis*, 1994, 15, 1280-83 (VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim).

#### 5.0 Verträglichkeit der MARIGENOL®-Präparate

- 10 AUSWIRKUNG auf das BLUTBILD TOXIZITÄT von MARIGENOL®-KONZENTRATEN an der BALB/c-Maus, %-Anteil der Blutzörperchen

15	Präparat	L	M	N	E	B
G 17	10 <sup>-7</sup>	70 ± 6	11 ± 3	13 ± 4	6 ± 4	0
	10 <sup>-8</sup>	77 ± 6	6 ± 3	11 ± 4	5 ± 4	1 ± 1
	10 <sup>-9</sup>	69 ± 10	7 ± 5	22 ± 8	2 ± 2	0
20 G 41	10 <sup>-7</sup>	77 ± 6	6 ± 3	13 ± 5	3 ± 3	0
	10 <sup>-8</sup>	78 ± 4	10 ± 2	10 ± 4	1 ± 1	1 ± 1
	10 <sup>-9</sup>	80 ± 6	8 ± 2	10 ± 6	12 ± 1	0
25 G 44	10 <sup>-7</sup>	74 ± 17	10 ± 1	20 ± 8	1 ± 1	0
	10 <sup>-8</sup>	74 ± 6	9 ± 4	14 ± 7	4 ± 3	0
	10 <sup>-9</sup>	76 ± 5	6 ± 4	16 ± 8	2 ± 1	0
G 55	10 <sup>-7</sup>	78 ± 4	10 ± 4	10 ± 4	2 ± 1	0
	10 <sup>-8</sup>	69 ± 10	11 ± 3	18 ± 4	1 ± 1	0
	10 <sup>-9</sup>	77 ± 5	8 ± 4	14 ± 2	2 ± 1	1 ± 1
30 KONTROLLEN (Phys. Puffer)		76 ± 5	8 ± 2	15 ± 4	1 ± 1	0

G 17 2%-Konzentrat mit C<sub>62</sub>-iso-CHOLESTERYL-ESTER (Cholesteryl-iso-Valerat)

G 41 2%-Konzentrat mit C<sub>17:1</sub>-ERGOSTERYL-ESTER (Ergosterol-10-Undecanoat)

G 44 2%-Konzentrat mit C<sub>18:2</sub>-CHOLECALCIFERYL-ESTER (C<sub>18:2</sub>-D<sub>3</sub>; Vitamin-D<sub>3</sub>-Uholat)

G 55 2%-Konzentrat mit C<sub>4:1</sub>-CHOLECALCIFERYL-ESTER (C<sub>4:1</sub>-D<sub>3</sub>; Vitamin-D<sub>3</sub>-Crotonat)

Verdünnungen:

10<sup>-7</sup> = 0,1 ppm Konzentrat; 0,002 ppm Wirksubstanz

10<sup>-8</sup> = 10 ppm Konzentrat; 0,200 ppm Wirksubstanz

10<sup>-9</sup> = 1000 ppm Konzentrat; 20,000 ppm Wirksubstanz

(auf die wässrige Mikroemulsion berechnet)

Legende:

L = Lymphocyten

M = Monocyten (Makrophagen)

N = Neutrophile Granulocyten

E = Eosinophile Granulocyten

B = Basophile Granulocyten

- 50 Durchführung der Proben: Prof. Dott. Guido FORNI, Dott. Stefania VAL, Università di Torino, Dipartimento di Scienze Cliniche e Biologiche, Ospedale San Luigi Gonzaga, I-10 043 ORBASSANO (TO), August/September 1993.

- 55 Test mit normalen 8-wöchigen weiblichen BALB/c nAcr (H-2d)-Mäusen, geliefert von Charles River Laboratories, Calco (Italien). Während 4 Wochen täglich zweimalige Injektion i.v. von je 0,250 ml wässriger Mikroemulsion, gebildet aus den angegebenen Konzentrationen, bzw. mit physiologischem Puffer für die Kontrollen. Färbung mit May Grünwald-Giemsa.

Zeit der Behandlung: 28 Tg.

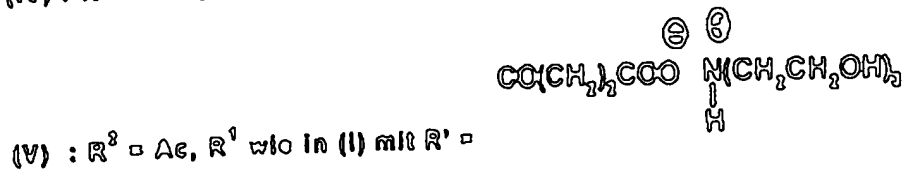
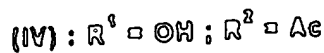
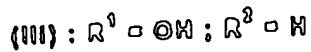
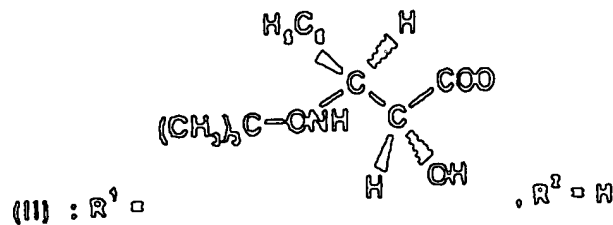
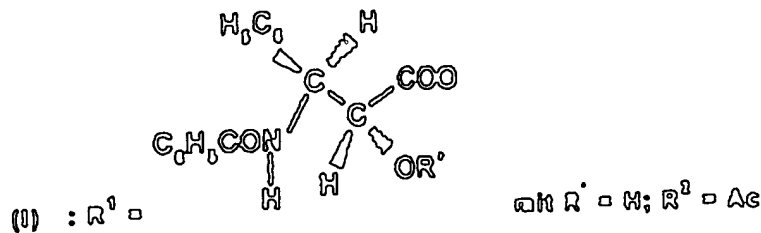
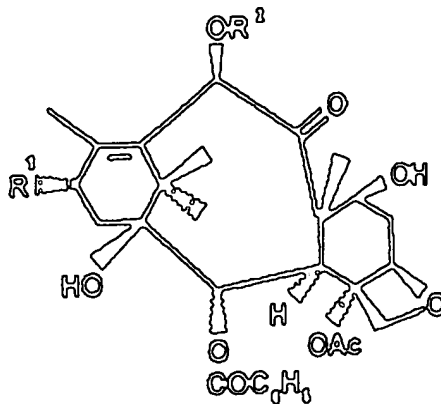
Blutanalyse: nach der letzten Injektion

Anzahl Tiere: 13 Gruppen zu je 5 Tieren

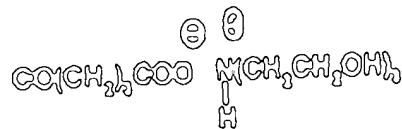
- 60 RESULTAT: Es traten keine signifikanten Unterschiede auf zu den Kontrollen. Es konnte keine Toxizität der Konzentrate auf die Leukozyten-Population festgestellt werden. Auch die Erythrozyten-Population zeigte normale Werte. Alle Tiere waren und blieben gesund bis zum Schluss der Versuche.

Pflanzenpräparate

1. Spontan dispergiertes Konzentrat, welches mit Wasser, mit 5%-iger Glucose-Lösung oder mit  
 Angewandung verändert homöodynamisch durch Ultraschallstrahlung ergibt, als Mischungen mit einem hy-  
 5 drodynamischen Radius von 2,2 bis 3,0 nm ausweisen, dadurch bestimmt, dass es aus folgenden Kom-  
 ponenten besteht:  
 0,5 bis 5 Gew.-% eines Wirkstoffes laut den Formeln (I) bis (IV), bzw. einer Kombination solcher  
 Wirkstoffe:







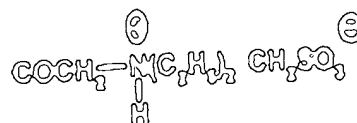
(VI) : R<sup>2</sup> = Ac, R<sup>1</sup> wie in (I) mit R' =



(VII) : R<sup>2</sup> = Ac, R<sup>1</sup> wie in (I) mit R' =



(VIII) : R<sup>2</sup> = Ac, R<sup>1</sup> wie in (I) mit R' =



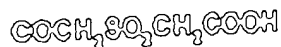
(IX) : R<sup>2</sup> = Ac, R<sup>1</sup> wie in (I) mit R' =



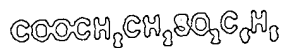
(X) : R<sup>2</sup> = Ac, R<sup>1</sup> wie in (I) mit R' =



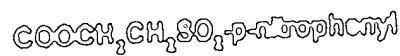
(XI) : R<sup>2</sup> = Ac, R<sup>1</sup> wie in (I) mit R' =



(XII) : R<sup>2</sup> = Ac, R<sup>1</sup> wie in (I) mit R' =



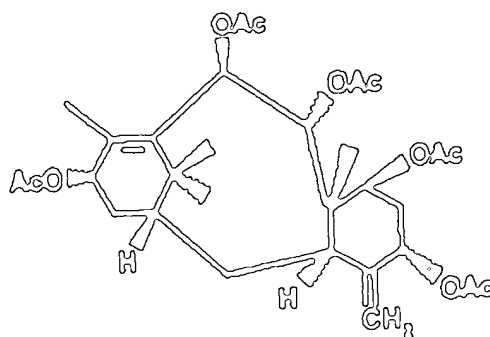
(XIII) : R<sup>2</sup> = Ac, R<sup>1</sup> wie in (I) mit R' =



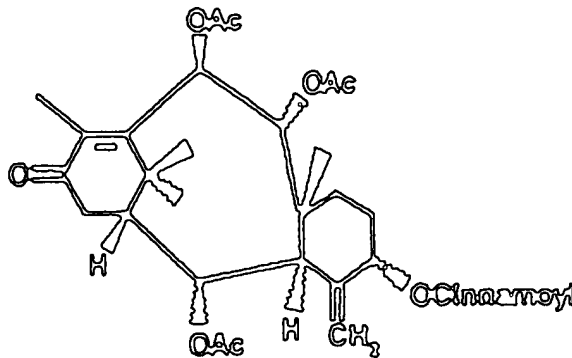
(XIV) : R<sup>2</sup> = Ac, R<sup>1</sup> wie in (I) mit R' =



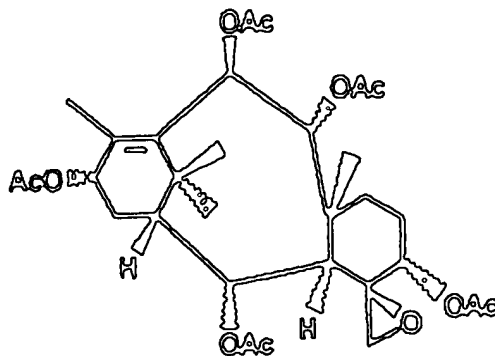
(XV) : R<sup>2</sup> = Ac, R<sup>1</sup> wie in (I) mit R' =



(XVI) :



(XVII) :



(XVIII) :

5 bis 25 Gew.-% eines als Hydrat, d.h. Gemischter anionischer, pharmazeutischer Lösungsmittel- oder Lösungsmittelgemischter.

5 bis 20 Gew.-% eines pharmazeutischen Tensids oder Tensidgemischter.

und weiterhin 0 bis 10 Gew.-% eines Vernetzungs- oder Präkursor, d.h.

0 bis 10 Gew.-% eines Stickstoff-, Fluor-, Sauerstoff- oder Phosphorverbindungs.

2. Ein pharmazeutisch vernetzbares Kombinationspräparat, das aus 20 Gew.-% des spannen dispergierbaren Konzentrats gemischter Anionen 1 und 10 Gew.-% pharmazeutischen Tensids und/oder Verdünnungsmittel besteht.

3. Spannen dispergierbares Konzentrat, bestehend aus Tensid oder Tensidgemischter Verbindungen der Formeln (I) bis (XVII) gemischter Anionen 1, als Mittel zur Herstellung eines pharmazeutischen Präparates mit oraler und/oder intravenöser Wirkung gegen Tumore, Diabetes und Psoriasis.

4. Spannen dispergierbares Konzentrat gemischter Anionen 1, bestehend aus folgenden konstitutiven Komponenten:

0,5 bis 5 Gew.-% eines oder mehrerer Wirkstoffe der Formeln (I) bis (XVII),

0,5 bis 25 Gew.-% Isopropylmyristat, Isopropylpalmitat oder Kauratherol (Oleum kauri), oder eines oder mehrerer biotensider Tensidgemischter der allgemeinen Formel (XX):



woin  $R^2$  eine  $C_8$ - $31$ -Alkyl-, eine  $C_8$ - $31$ -Alkenyl- oder eine  $C_8$ - $31$ -Alkylphenylgruppe ist und  $R^3$  Chloräthyl-, Formyl-, Geranyl-, Isopropyl- oder Phenyl- bedeutet.

30 bis 45 Gew.-% eines Phosphorsäureester-Tensids,

30 bis 45 Gew.-% des wasserlöslichen Ions Octylphenylpolyoxyethylen Ether mit 9 bis 10 Oxyethylen Gruppen.

5. Spannen dispergierbares Konzentrat gemischter Anionen 1, bestehend aus folgenden konstitutiven Komponenten:

0,5 bis 5 Gew.-% eines oder mehrerer Wirkstoffe der Formeln (I) bis (XVII),

5 bis 25 Gew.-% eines oder mehrerer biotensider Tensidgemischter der allgemeinen Formel (XX):



woin  $R^2$  eine  $C_8$ - $31$ -Alkyl-, eine  $C_8$ - $31$ -Alkenyl- oder eine  $C_8$ - $31$ -Alkylphenylgruppe ist und  $R^3$  Chloräthyl-, Formyl-, Geranyl-, Isopropyl- oder Phenyl- bedeutet.

- 30 bis 45 Gew.-% des wasserfreien, mit Octylphenylpolyoxyäthylen Ethern mit 0 bis 10 Octyläthylen Gruppen und/oder Polyoxyäthylen-Sorbitan-Monoestern und/oder Polyoxyäthylen-20-Methylglucosid-Scopolamin.
- 30 bis 45 Gew.-% eines Alkylphenol-Polyoxyäthylen-Phosphat-Tenactins oder des Triäthylphenol-polyoxyäthylen-16-phosphoräureester-äthylamin-2-Tenactins.
9. a. Spontane Emulgierende Konzentration gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass es sich um ein konstantes Konzentration handelt.
- 0,5 bis 5 Gew.-% eines oder mehrerer Wirkstoffe der Formeln (I) bis (IVa),
- 5 bis 25 Gew.-% Ethylcellulose oder 2-Picrylnat und/oder Dimethylsulfoxyd getrocknet (DMSO),
- 10 bis 40 Gew.-% Polyoxyäthylen-Sorbitan-Monoester (Polymer 20) oder Polyoxyäthylen-Sorbitan-Monoester und/oder Polyoxyäthylen-20-Methylglucosid-Scopolamin,
- bis zu 60 Gew.-% des Triäthylphenol-polyoxyäthylen-16-phosphoräureester-äthylamin-2-Tenactins.
7. Spontane Emulgierende Konzentration gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass darin folgendes Bestandteile inbegriffen sind:
- 1 bis 5 Gew.-% eines oder mehrerer Wirkstoffe der Formeln (I) bis (IVa), 10 bis 25 Gew.-% Ethylcellulose oder 2-Picrylnat,
- 25 Gew.-% Polyoxyäthylen-Sorbitan-Monoester oder Polyoxyäthylen-Sorbitan-Monoester,
- 0 bis 16 Gew.-% des wasserfreien, mit Octylphenylpolyoxyäthylen Ethern mit 0 bis 10 Octyläthylen Gruppen,
- 20 bis 50 Gew.-% des Triäthylphenol-polyoxyäthylen-16-phosphoräureester-äthylamin-2-Tenactins.
9. Spontane Emulgierende Konzentration gemäss Anspruch 1, bestehend aus den folgenden konstanten von Komponenten:
- 0,5 bis 4 Gew.-% des Wirkstoffes der Formel (I),
- 3 bis 12 Gew.-% Ethylcellulose oder 2-Picrylnat und/oder Dimethylsulfoxyd getrocknet (DMSO),
- 25 16 Gew.-% Chitosan-10-Undecanoat oder Chitosan-Monoester,
- 34 bis 49 Gew.-% des wasserfreien, mit Octylphenylpolyoxyäthylen Ethern mit 0 bis 10 Octyläthylen Gruppen,
- 34 bis 49 Gew.-% des Triäthylphenol-polyoxyäthylen-16-phosphoräureester-äthylamin-2-Tenactins.
9. Therapeutisches Systemgemisch, das bis zu 20 Gew.-% aus einem spontan emulgierenden Konzentrat gemäss einem der Ansprüche 1 oder 4 bis 6, sowie zu mindestens 10 Gew.-% aus pharmazeutisch-trägenden Trägerstoffen, Zusatzstoffen, oder einem Lösungsmittel hergestellt ist, und das in Dosis-Form insbesondere als Microgels, Granulat, Dragees, Suppositorien, Ampullen oder als Kapseln vorliegt.
10. Die Verwendung des spontan emulgierenden Konzentrates gemäss Anspruch 1 und daraus auf bereiteter pharmazeutischer Zusammensetzung als Mittel zur Herstellung eines pharmazeutischen Systempräparates mit erhöhter und gut verträglicher Wirksamkeit gegen Tumore, Ekzeme und Psoriasis.